

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
30. Mai 2002 (30.05.2002)

PCT

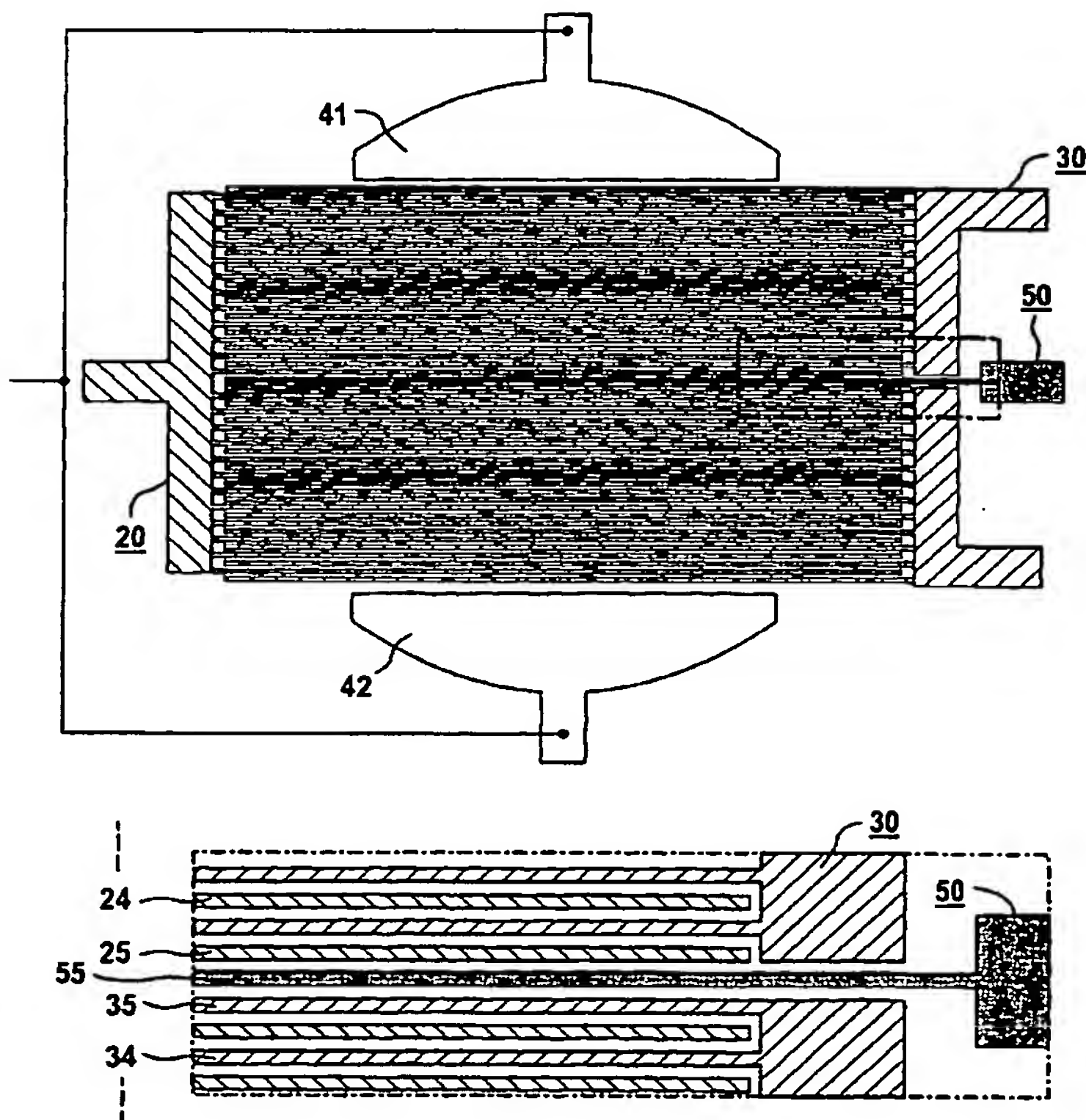
(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 02/42759 A1**

- (51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: **G01N 27/403** (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): **SIEMENS AKTIENGESELLSCHAFT** [DE/DE];  
Wittelsbacherplatz 2, 80333 München (DE).
- (21) Internationales Aktenzeichen: **PCT/DE01/04438**
- (22) Internationales Anmeldedatum:  
26. November 2001 (26.11.2001) (72) Erfinder; und  
(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **MUND, Konrad** [DE/DE]; Langenbrucker Weg 10, 91080 Uttenreuth (DE).  
**GUMBRECHT, Walter** [DE/DE]; In der Röte 1, 91074  
Herzogenaurach (DE). **STANZEL, Manfred** [DE/DE];  
Taunusstr. 100, 91056 Erlangen (DE).
- (25) Einreichungssprache: **Deutsch**
- (26) Veröffentlichungssprache: **Deutsch**
- (30) Angaben zur Priorität:  
100 58 397.0 24. November 2000 (24.11.2000) DE

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: METHOD FOR ELECTROCHEMICAL ANALYSIS, CORRESPONDING CONFIGURATIONS AND THE USE THEREOF

(54) Bezeichnung: ELEKTROCHEMISCHES ANALYSEVERFAHREN, ZUGEHÖRIGE ANORDNUNGEN UND DEREN VERWENDUNG



(57) Abstract: The aim of the invention is to improve the known redox (re)cycling method in terms of the measurement technique in such a way that the redox potential created by a redox pair is measured on a reference electrode in an electroless manner. A configuration adapted to said method contains an electrode system consisting of at least three electrodes: one working electrode, one counter electrode and one reference electrode. According to the invention, the reference electrode (R) is arranged in such a way that it is adjacent to at least partial areas of the two other electrodes ( $W_{ox}$ ,  $W_{red}$ , C), and preferably, at an equal distance from said partial areas. In terms of redox recycling, said electrode system is suitable, for example, for detecting enzyme-coupled identification reactions, but also for measuring an oxygen partial pressure ( $pO_2$ ) or hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ).

(57) Zusammenfassung: Das bekannte Redox-(Re) cycling wird messtechnisch dahingehend verbessert, dass an einer Referenzelektrode das sich von einem Redox-Paar ausbildende Redox-Potential stromlos gemessen wird. Eine dazu geeignete Anordnung enthält ein elektroden-system aus wenigstens drei Elektroden, wobei wenigstens eine Arbeitselektrode, eine Gegenelektrode

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 02/42759 A1

BEST AVAILABLE COPY



(74) **Gemeinsamer Vertreter:** SIEMENS AKTIENGESSELLSCHAFT; Postfach 22 16 34, 80506 München (DE).

(81) **Bestimmungsstaaten (national):** CA, JP, US.

(84) **Bestimmungsstaaten (regional):** europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).

**Erklärungen gemäß Regel 4.17:**

- hinsichtlich der Berechtigung des Anmelders, ein Patent zu beantragen und zu erhalten (Regel 4.17 Ziffer ii) für die folgenden Bestimmungsstaaten CA, JP, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR)
- Erfindererklärung (Regel 4.17 Ziffer iv) nur für US

**Veröffentlicht:**

- mit internationalem Recherchenbericht
- vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

und eine Referenzelektrode vorhanden sind. Gemäß der Erfindung ist die Referenz-elektrode (R) derart angeordnet, dass sie zumindest Teilbereichen der zwei weiteren Elektroden ( $W_{ox}$ ,  $W_{red}$ , C) benachbart ist. Vorzugsweise ist sie von diesen Teilbereichen gleich beabstandet. Das elektrodensystem ist im Rahmen des Redox-Recycling beispielsweise zum Erfassen von enzym-gekoppelten Nachweisreaktionen, aber auch zum Messen eines Sauerstoffpartialdruckes ( $pO_2$ ) oder von Wasserstoffperoxid ( $H_2O_2$ ) geeignet.

## Beschreibung

Elektrochemisches Analyseverfahren, zugehörige Anordnungen und deren Verwendung

5

Die Erfindung bezieht sich auf ein elektrochemisches Analyseverfahren mit Redox-(Re)cycling und zugehörige Anordnungen mit einem Elektrodensystem aus wenigstens drei Elektroden, wobei wenigstens eine Arbeitselektrode, eine Gegenelektrode  
10 und eine Referenzelektrode vorhanden sind. Daneben bezieht sich die Erfindung auch auf spezifische Verwendungen der Anordnungen mit dem Elektrodensystem.

Bei einer speziellen Form der amperometrischen Analyse wird  
15 an einer Arbeitselektrode  $W_{ox}$  die reduzierte Form eines zu detektierenden Stoffes  $A_{red}$  zu dessen oxidierten Form  $A_{ox}$  oxidiert und an einer benachbarten Arbeitselektrode  $W_{red}$  wieder zu  $A_{red}$  reduziert. Dieser Vorgang, der als sog. Redox-(Re)cyclings bezeichnet wird (Literatur: K. Aoki et al., J. Electroanal. Chem., 256 (1988), Seiten 269 bis 282, O. Niwa et al.,  
20 Anal. Chem., 65 (1993), Seiten 1559 bis 1563), führt zu einer Signalverstärkung. Für ein solches Verfahren ist insbesondere eine Sensoranordnung mit elektrisch ansteuerbarem Array entsprechend der WO 00/62048 A geeignet. Neben den Arbeitselektroden sind dabei weitere Hilfselektroden vorhanden, die aber  
25 kein Redox-Potential erfassen können.

Aufgabe der Erfindung ist es daher, ein Verfahren anzugeben und zugehörige Vorrichtungen der eingangs genannten Art zu  
30 schaffen, bei denen die Messungen bei elektrochemischen Analyseverfahren verbessert und vereinfacht werden, bzw. bei denen die Messanordnungen kostengünstiger herstellbar sind.

Die Aufgabe ist bezüglich des Verfahrens erfindungsgemäß  
35 durch die Maßnahmen des Patentanspruches 1 und bezüglich der Vorrichtung durch die Merkmale des Patentanspruches 5 gelöst. Weiterbildungen der Erfindung sind in den abhängigen Verfah-

rens- und/oder Sachansprüchen angegeben. Weiterhin enthalten die Patentansprüche auch bevorzugte Anwendungen der angegebenen Anordnungen mit erfindungsgemäßem Elektrodensystem.

- 5 Beim erfindungsgemäßen Verfahren wird ein an sich bekanntes Redox-(Re)cycling zur Verstärkung von Auswertesignalen für ein elektrochemisches Analyseverfahren durchgeführt, bei dem nunmehr erstmalig ein genau definiertes Redox-Potential zur Auswertung genutzt wird. Mit der Erfindung wird also insbe-  
10 sondere eine Referenzelektrode definiert, an der stromlos, d.h. hochohmig das Redox-Potential abgegriffen und der weiteren Signalverarbeitung zugeführt wird.

- Referenzelektroden werden zwar bereits häufig bei elektroana-  
15 lytischen Verfahren (siehe z.B. W. Buchberger „Elektrochemische Analyseverfahren“ Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg (1998), Berlin) benutzt, die ein vom Analyten unabhängiges stabiles Bezugspotential liefern müssen. Eine klassische Referenzelektrode ist z.B. die Ag/AgCl-Elektrode, die aus  
20 folgender Anordnung besteht:

el. Leiter / Silber / Silberchlorid / KCl-Lösung/Diaphragma

Solche Referenzelektroden sind relativ komplex aufgebaut und benötigen Volumina von einigen  $\text{cm}^3$ .

- 25 Viele elektroanalytische Verfahren werden heutzutage mit Hilfe der Technologien der Mikroelektronik und Mikrosystemtechnik miniaturisiert (Volumina wenige  $\text{mm}^3$ ), wobei jedoch die Möglichkeiten der Miniaturisierung von Referenzelektroden begrenzt sind. Es kann z.B. eine Ag/AgCl-Schicht in Dünnschicht-  
30 technik ausgeführt werden und anstelle eines KCl-Lösungsvolumens eine definierte Chlorid-Ionen-Konzentration dem Analyten zugefügt werden. Eine solche Referenzelektrode (sog. Elektrode 2. Art) wird in der DD 301 930 A9 für eine Mikro-Mehrelektrodenanordnung benutzt.

35

Bei mikroelektroanalytischen Verfahren ist jedoch der Einsatz von Ag/AgCl-Schichten i. allg. unerwünscht. Gründe dafür sind

eine unvermeidbare Kontaminationsgefahr, fehlende Prozesskompatibilität und hohe Kosten. Insofern sind die vom Stand der Technik bekannten Referenzelektroden für ein Redox-(Re)cycling ungeeignet, so dass dort bisher darauf verzichtet wird.

5

Bei Realisierung der Erfindung beinhalten die zugehörigen Anordnungen eine besondere Platzierung der Referenzelektrode im Elektrodensystem und zwar so, dass symmetrische Verhältnisse aller Messelektroden zur Referenzelektrode vorliegen. Dabei ist an sich bekannt und wird vorausgesetzt, dass ein sog. Redox-Paar, d.h. ein Gemisch aus oxidiertem und reduziertem Form einer Substanz A, ggf. einer Verbindung, an einer elektrochemisch aktiven (Edel)-Metallelektrode in Lösung ein sog. Redox-Potential ausbildet, das exakt definiert ist. Dieses Redox-Potential lässt sich durch Realisierung der hochohmigen Referenzelektrode stromlos messen und zur Auswertung nutzen.

Unter einer elektrochemisch bzw. katalytisch aktiven Elektrode wird in vorliegendem Zusammenhang verstanden, dass sowohl die oxidierte Form der Substanz auf dem Elektrodenmaterial chemisorbiert wird, um einen Elektronenaustausch zu ermöglichen. Diese Forderung wird insbesondere von Edelmetallen, wie Gold (Au), Platin (Pt) od. dgl., aber ggf. auch von anderen Materialien, beispielsweise Kohlenstoff, erfüllt, sofern sie eine Redox-Reaktion ermöglichen.

Für einen Sensor auf der Basis des Redox-(Re)cycling-Verfahrens braucht man Arbeitselektroden  $W_{red}$  und  $W_{ox}$ , eine Gegenelektrode C und eine Referenzelektrode R. Ggf. genügt eine Arbeitselektrode, wenn die Gegenelektrode auch die Funktion einer Arbeitselektrode einnimmt. Bei den einzelnen erfindungsgemäßen Anordnungen wird die Referenzelektrode hinsichtlich der Potentialmessung besonders vorteilhaft ausgestaltet und platziert. Vorzugsweise sind alle Elektroden aus dem gleichen Material, insbesondere einem Edelmetall, wie z.B. Gold, ausgebildet.



- Daraus ergibt sich ein entscheidender Vorteil bei der Herstellung solcher Strukturen auf der Basis der Halbleitertechnologie. Die Verwendung von klassischen Referenzelektrodenmaterialien wie z.B. Silber/Silberchlorid entsprechend der
- 5 DD 301 930 A ist in der Halbleitertechnologie problematisch. Eine Einführung von Silber/Silberchlorid in einem halbleitertechnologischen Prozess würde ein hohes Kontaminationsrisiko für die Standard-Halbleiterprozesse bedeuten und Kompatibilitätsproblem sowie hohe Herstellungskosten bewirken. Die er-
- 10 findungsgemäße Ausführung der Referenzelektrode in derselben Technologie wie die der anderen Elektroden, d.h. Arbeits- und Gegenelektroden, vermeidet diese Probleme und verringert die Herstellungskosten.
- 15 Weitere Einzelheiten und Vorteile der Erfindung ergeben sich aus der nachfolgenden Figurenbeschreibung von Ausführungsbeispielen anhand der Zeichnung in Verbindung mit den Patentansprüchen. Es zeigen jeweils in schematischer Darstellung
- 20 Figur 1 eine Anordnung für das Redox-(Re)cycling, aus der insbesondere die erfindungsgemäße Platzierung der Redox-Referenzelektrode hervorgeht,
- Figur 2 die Draufsicht auf ein Elektrodensystem mit zwei Arbeitselektroden, Gegenelektrode und Referenzelektrode
- 25 zur Verwendung bei der Anordnung gemäß Figur 1,
- Figur 3 eine Abwandlung von Figur 2 mit nur einer Arbeitselektrode, Gegenelektrode und Referenzelektrode,
- Figur 4 die Draufsicht auf ein Elektrodensystem mit parallel kreisförmig ausgebildeten Elektrodenfingern und
- 30 Figur 5 den Querschnitt durch ein Substrat mit Arbeitselektroden und einer Referenzelektrode an der Oberfläche und einer Verarbeitungsschaltung im Innern eines Halbleiters.
- 35 Bei einem elektrochemischen Analyseverfahren wird ein sog. Redox-(Re)cycling angewandt. Das Redox-(Re)cycling ist ein bekannter zyklischer Prozess zur Verstärkung von Signalen,

wozu ein Aufbau gemäß Figur 1 dient. Es ist eine Substanz A vorhanden und ersichtlich, dass die oxidierten Spezies  $A_{Ox}$  an den Arbeitselektroden  $W_{Red}$  reduziert werden und dass die reduzierten Spezies  $A_{Red}$  dagegen an den Arbeitselektroden  $W_{Ox}$  oxidiert werden. Die Arbeitselektroden  $W_{Red}$  und  $W_{Ox}$  werden auch als Redox-Elektroden für ein sog. Redox-Paar aus den Spezies  $A_{Red}$  und  $A_{Ox}$  bezeichnet.

Im Einzelnen zeigt Figur 1 einen Schnitt durch einen Teil einer Elektroden-Anordnung mit jeweils mehreren Arbeitselektroden 2, 2' und 3, 3' sowie einer Referenzelektrode 5, die sich auf einem Substrat 1 befinden. Das Redox-(Re)cycling führt in den Bereichen der einzelnen Arbeitselektroden 2, 2' und 3, 3' zu den angegebenen Reaktionen, so dass sich ein Redox-Potential ausbildet. Die Referenzelektrode 5 ist am hochohmigen Eingang eines in Figur 1 nicht dargestellten Messverstärkers angeschlossen, sodass die Spezies  $A_{Ox}$  und  $A_{Red}$ , die von beiden Seiten an die Referenzelektrode 5 herandiffundieren, ein Redox-Potential ausbilden, das sich gemäß der Nernst'schen Gleichung ergibt zu:

$$E = E_0 + \frac{RT}{zF} * \ln (C(A_{Ox}) / C(A_{Red})) \quad (1)$$

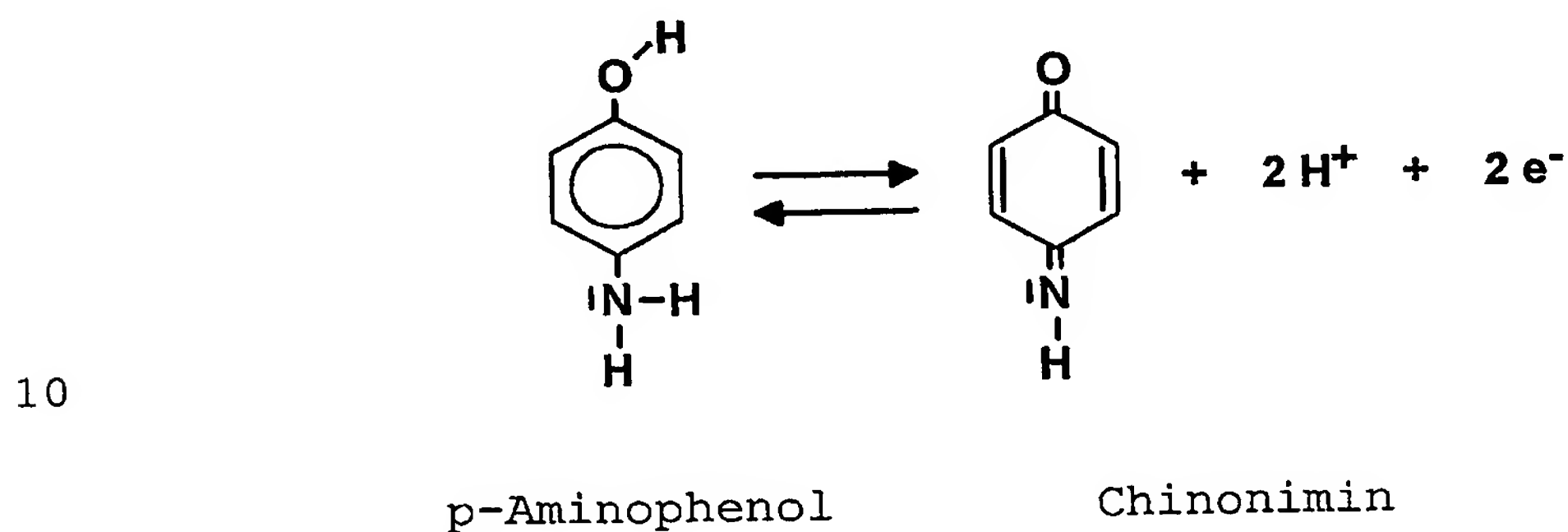
Dabei bedeuten

- 25 E: Redox-Potential
- R: Gaskonstante
- T: absol. Temperatur
- z: Anzahl der Redox.-Elektronen
- F: Faraday-Konstante
- 30 C: Konzentration der Spezies ( $A_{Ox}$ ) und ( $A_{Red}$ )

Die Erfassung und Auswertung eines solchen Redox-Potentials mittels geeigneter elektrochemischer Messtechnik zwecks Verwendung als Referenzpotential beim Redox-(Re)cycling erfordert eine hochohmige Referenzelektrode. Mitentscheidend für die Funktion eines solchen Referenzelektroden-Prinzips ist die Tatsache, dass das Redox-Potential nicht von den absolu-

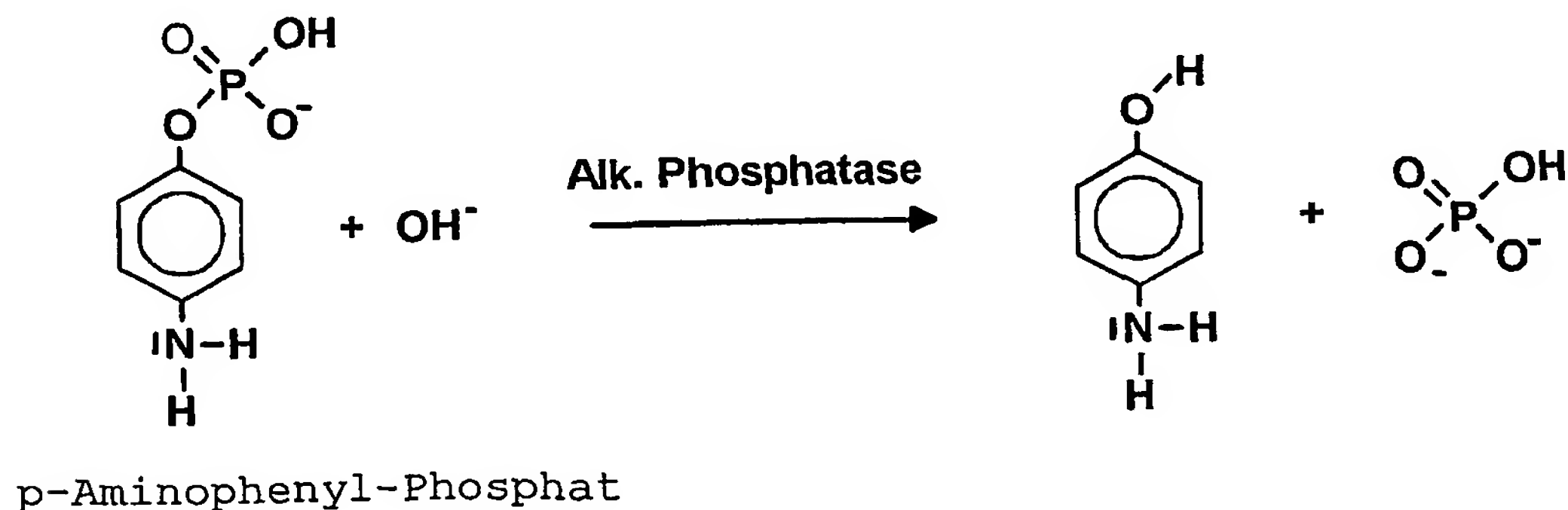
ten Konzentrationen der oxidierten und reduzierten Spezies abhängt, sondern von deren Aktivitäten, d.h. chemischem Konzentrations-Verhältnis  $C(A_{Ox})/C(A_{Red})$ . Bei einem laufenden, sich im Gleichgewicht befindlichen Redox-(Re)cycling-Prozess ist dieses Konzentrationsverhältnis  $A(A_{Ox})/C(A_{Red})$  gleich 1.

Als Beispiel für ein Redox-Paar sei p-Aminophenol / Chinonimin genannt:



Am entsprechenden Redox-Prozess sind 2 Elektronen sowie 2  $H^+$ -Ionen beteiligt.

Dieses System kommt z.B. bei Enzym-gekoppelten Nachweisreaktionen zum Einsatz. Dabei wird das Enzym „Alkalische Phosphatase“ als Label- bzw. Verstärkungs-Substanz eingesetzt. Alkalische Phosphatase ist in der Lage, p-Aminophenyl-Phosphat in p-Aminophenol und Phosphat zu spalten:



Das entstehende p-Aminophenol wird am Elektroden-System oxidiert bzw. das Redox-Paar p-Aminophenol/Chinonimin zykli-



siert. Zu Beginn einer solchen, auf Redox-(Re)cycling basierenden Nachweisreaktion liegt theoretisch noch kein Chinonimin, sondern nur kleine Mengen von p-Aminophenol vor, so dass das Konzentrationsverhältnis des Redoxpaars p-Aminophenol/chinonimin deutlich von 1 verschieden sein würde und gem. Nernst'scher Gleichung eine Verschiebung des Redoxpotentials zur Folge haben würde.

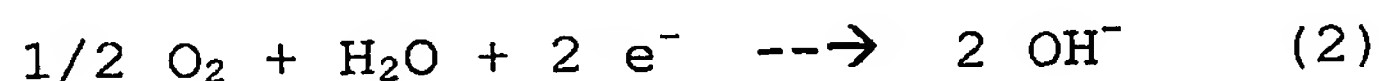
Vorteilhaft für die Funktion der Referenzelektrode ist nun aber die Tatsache, dass das Enzym-Substrat p-Aminophenylphosphat stets teilhydrolysiert vorliegt und somit Spuren (ca. 0,1 %) von p-Aminophenol vorliegen, die ihrerseits teiloxydiert sind somit kleine Konzentrationen des Redox-Paares p-Aminophenol/Chinonimin vorliegen.

Aufgrund der logarithmischen Beziehung in Gleichung (1) ergeben sich selbst bei erheblichen Konzentrationsunterschieden von oxidiert und reduzierter Form nur verhältnismäßig kleine Abweichungen des Redox-Potentials.

Letzteres wird an folgendem Beispiel erläutert: Unter der Annahme, dass das p-Aminophenol/Chinonimin Verhältnis nicht 1, sondern 100/1 wäre, d.h. nur 1 % des p-Aminophenols zu Chinonimin oxidiert wäre, so ergäbe sich aufgrund der Nernst'schen Gleichung ein Unterschied des Redox-Potentials und somit der Referenzelektroden-Spannung von lediglich ca. 60 mV. Somit würde eine Abweichung von 60 mV für die beiden Arbeitselektroden resultieren. Der Vorgang des Redox-Recyclings wird durch diese Abweichung kaum gestört, da die Spannungs-Differenz zwischen den beiden Arbeitselektroden ( $W_{ox}$  und  $W_{red}$ ) ca. 400 mV beträgt und aufgrund des Betriebs der Elektroden im Diffusionsgrenzstrom Variationen dieser Größenordnung (60 mV) einen zu vernachlässigenden Einfluss haben. Das Redox-(Re)cycling wird zumindest in Gang kommen, wodurch sich das Verhältnis von p-Aminophenol und Chinonimin gleich 1 nähert und somit auch die Abweichungen der Referenzelektroden-Spannung gegen Null gehen.

Der Einsatz der erfindungsgemäßen Redox-Referenzelektrode ist nicht auf die besondere Situation des Systems p-Aminophenol / Chinonimin beschränkt. Sie kann für alle enzymgekoppelten Redox-(Re)cycling-Prozesse eingesetzt werden. Zur Stabilisierung des Redox-Referenzelektrodenpotentials kann man dem Enzymsubstrat eine kleine definierte Menge des beteiligten oder auch beliebigen Redoxpaares zusetzen. Eine kleine Menge des Redoxpaares würde über dessen Konzentrationsverhältnis (= 1) das Redoxpotential festlegen, ohne den analytischen Nachweis zu verfälschen, da die analytische Information aus dem enzymgekoppelten, zeitlichen Anstieg der Konzentrationen gewonnen wird und nicht von deren Anfangskonzentration abhängt.

Man kann die erfindungsgemäße Redox-Referenzelektrode auch auf andere, nicht enzymgekoppelte Analyseverfahren anwenden. Ein erstes Beispiel ist die Messung des Sauerstoff-Partialdruckes  $pO_2$ . Eine bekannte Methode beruht auf der Reduktion von Sauerstoff ( $O_2$ ) und Umsetzung entsprechend Gleichung (2) zu  $OH^-$  an einer katalytisch aktiven Edelmetallkathode.



Wird an einer Anode, die als zweite Arbeitselektrode ausgeführt ist, ein oxidierendes Potential aufgeprägt, das ausreicht um das gebildete  $OH^-$  wieder zu  $O_2$  zu oxidieren, wird ein Redox-(Re)cycling-Prozess in Gang gesetzt. Anstelle einer zweiten Arbeitselektrode kann auch die Gegenelektrode verwendet werden an welcher das nötige Potential durch den Potentialstaten automatisch eingestellt wird. Auch hier kann mit einer Redox-Referenzelektrode das zur Auswertung nötige Referenzpotential abgegriffen werden.

Ein weiteres Beispiel ist eine Glukosemessung. Dazu wird Glukose mit Sauerstoff ( $O_2$ ) in Glukonsäure umgesetzt und über einen zyklisierten Prozess Wasserstoffperoxid ( $H_2O_2$ ) erzeugt,

wobei durch Redox-(Re)cycling ebenfalls ein Referenz-Potential zur Auswertung gemessen werden kann.

Figur 2 zeigt eine Ausführungsform für ein Vier-Elektroden-System, bestehend aus den beiden Arbeitselektroden  $W_{ox}$  und  $W_{red}$ , die hier speziell als sog. Interdigital-Elektroden 20 und 30 ausgeführt sind, einer Gegenelektrode C, die aus Symmetriegründen mit zwei elektrisch verbundenen Teilelektroden 41, 42 ausgebildet ist, sowie einer Referenzelektrode R.

10

Unter „Interdigitalelektrode“ wird im vorliegenden Zusammenhang eine Elektrode mit fingerartigen Elektrodentteilen bezeichnet, wobei zwei Interdigitalelektroden mit den jeweiligen Fingern kammartig ineinandergreifen können. Dies bedeutet, dass die Arbeitselektrode 20 parallele Finger 21, 22, ..., 25, ... und die Arbeitselektrode 30 parallele Finger 31, 32, ..., 35, ... enthält.

15

Die Referenzelektrode 50 ist als eine „Fingerelektrode“ mit einem einzelnen Finger 55 ausgebildet und derart in der Doppelkammstruktur der Arbeitselektroden 20 und 30 angeordnet, dass der Finger 55 sowohl einem „Finger“ 25 als Teil der Arbeitselektrode 20 als auch einem „Finger“ 35 als Teilbereichsbereich der Arbeitselektrode 30 benachbart ist. Aus dem Detail-Ausschnitt der Figur 2 ergibt sich weiterhin eine konstante Beabstandung des Referenzelektrodenfingers 55 von diesen Teilbereichen der Arbeitselektroden 20 und 30. Damit liegen exakt symmetrische Verhältnisse vor.

20

25

Wie vorstehend erläutert, besteht die Anordnung gemäß Figur 2 aus vier Elektroden, d.h. zwei Arbeitselektroden  $W_{ox}$  und  $W_{red}$ , einer Referenzelektrode R in erfindungsgemäßer Platzierung und einer bzw. zwei Gegenelektroden C, die aber elektrisch miteinander kontaktiert sind und insofern eine einzige Elektrode darstellen. Eine solche Anordnung mit zwei Arbeitselektroden wurde in der Praxis zur Erfassung von Redox-Potentialen erprobt.

30

35

In Figur 3 ist die Anordnung gemäß Figur 2 insoweit abgeändert, dass anstelle der zweiten Arbeitselektrode 30 aus Figur 2 die Gegenelektrode verwendet wird. D.h., neben der Arbeitselektrode W, die entsprechend der Arbeitselektrode 20 mit Fingern 21, 22, ..., 25, ... ausgebildet ist, hat die Gegenelektrode 40 eine identische Form mit einzelnen Fingern 41, 42, ..., 45, ..., wobei in diesem Fall die Arbeitselektrode W und die Gegenelektrode C mit ihren Fingern 21, 22, 25, ... bzw. 42, 42, 45, ... kammartig ineinandergreifen. Der Finger 55 der Referenzelektrode 50 ist den beiden Fingern 25 und 45 der Elektroden 20 und 40 exakt gleich beabstandet.

In der Figur 4 ist eine Elektrodenanordnung dargestellt, die von prinzipiellem Aufbau aus der DE 196 10 115 A1 vorbekannt ist. Die Elektrodenanordnung gemäß Figur 4 hat ebenfalls zwei Arbeitselektroden  $W_{Ox}$  und  $W_{Red}$  mit einzelnen Fingern, die hier kreisförmig parallel ausgebildet sind. Dies bedeutet im Einzelnen, dass von zwei parallelen und radialen Elektrodenanschlüssen 120 und 130 einzelne Finger 121, 122, ... und einzelne Finger 131, 132, ... jeweils gegenläufig parallel koaxial verlaufen und insgesamt eine Kreisfläche abdecken. Eine solche Elektrodenanordnung ist flächenmäßig kompakt. Um den kreisförmigen Aufbau ist eine ringförmig ausgebildete Gegenelektrode 140 angeordnet.

Darüber hinaus ist in Figur 4 nunmehr ebenfalls eine Referenzelektrode 50 mit einem einzelnen Finger 55 vorhanden, der parallel zwischen den Anschlüssen 120 und 130 der Arbeitselektroden  $W_{Ox}$  und  $W_{Red}$  radial zum Gesamtsystem verläuft. Der Finger 55 bei der Referenzelektrode ist also Teilbereichen der Arbeitselektroden  $W_{Red}$  und  $W_{Ox}$  gleichermaßen benachbart und diesen Teilen gleich beabstandet. Dies bedeutet insbesondere, dass der Finger der Referenzelektrode nicht in das Zentrum der Anordnung hineinragt.

In Figur 5 ist ein Aufbau im Wesentlichen entsprechend Figur 1 dargestellt, die jeweils wieder mehrere Arbeitselektrode  $W_{ox}$  und  $W_{red}$ , eine zugehörige Referenzelektrode R sowie eine Gegenelektrode C auf einem Substrat zeigt, das hier mit 10 bezeichnet ist. Als Substrat 10 dient beispielsweise Silizium, das kristallographisch orientiert ist und gleichermaßen Träger von elektrischen Schaltelementen zur messtechnischen Auswertung und/oder Verstärkung der Redox-Potentiale ist. Dargestellt sind Verstärker 15 bis 17 und Rückkopplungswiderstände 18, wobei insbesondere der hochohmige Operationsverstärker 15 für die Funktionsweise der Referenzelektrode R von Bedeutung ist, um eine stromlose Messung des Redox-Potentials zu ermöglichen. Die Referenzelektrode R liegt am hochohmigen Eingang des Verstärkers 15, wobei deren Ausgang an die Gegenelektrode C angeschlossen ist. Über den anderen Eingang des Verstärkers 15 wird das Soll-Referenzpotential  $U_{Ref}$  gewählt.

Mit den weiteren Operationsverstärkern 16 bzw. 17 lässt sich bei Anschluss an die Arbeitselektrode  $W_{ox}$  und dem zugehörigen Potential  $U_{ox}$  der Spannungsabfall  $U = R \cdot I_{ox}$  messen und bei Kenntnis des Widerstandswertes R vom Rückkopplungswiderstand 18 die Größe  $I_{ox}$  bestimmen. Gleiches gilt für  $I_{red}$  an der Arbeitselektrode  $W_{red}$ .

Zur Realisierung der Anordnung gem. Figur 3 wird nur eine Arbeitselektroden-Interdigitalelektrode polarisiert und der daraus resultierende elektr. Strom gemessen. Die zweite Interdigitalelektrode wird als Gegenelektrode beschaltet, d.h. die Polarisierung dieser Elektrode wird über den Ausgang des Potentiostaten automatisch eingestellt.

Die Anordnung gemäß Figur 5 lässt sich in einfacher Weise zu einem ein- oder zweidimensionalen Array erweitern. Statt Silizium sind für das Substrat auch andere Materialien, beispielsweise Kunststoff, Glas oder Keramik, möglich. In diesem



Fall ist die Auswerteschaltung aus diskreten Bauelementen aufgebaut.

Wesentlich ist in Figur 5, dass die Referenzelektrode unmittelbar in eine Auswerteschaltung eingebunden ist, die entweder analog oder digital aufgebaut sein kann. Durch die unmittelbare Anbindung der Referenzelektrode an den hochohmigen Eingang des Verstärkers ist eine weitgehend störungsfreie Messung des Redox-Potentials mittels vorhandener elektrochemischer Messsignale möglich.

Dies ist von besonderer Bedeutung, weil die sog. Austauschstromdichten des Redoxpaares an der „ultramicro“ Referenzelektrode sehr klein sind, d.h. diese Referenzelektrode ist sehr hochohmig und weist eine sehr kleine Kapazität auf. Der Eingang des Verstärkers muss deshalb sehr hochohmig sein, sowie eine sehr kleine Eingangskapazität aufweisen. Diese Forderung wird z.B. besonders gut von einem MOS-Transistor erfüllt, der direkt unterhalb der Elektrode platziert ist.

Insgesamt bildet das Elektrodensystem mit dem zugehörigen Substrat für elektrochemische Analyseverfahren eine komplette Messanordnung, die außer zum im Einzelnen anhand eines konkreten Beispiels beschriebenen Redox-(Re)cycling auch zum Erfassen von enzymgekoppelten Nachweisreaktionen geeignet ist.

## Patentansprüche

1. Elektrochemisches Analyseverfahren mittels Redox-(Re)cycling, mit folgenden Verfahrensschritten:
  - 5 - es werden die reduzierte Form einer Substanz an einer Elektrode oxidiert und die dabei entstandene oxidierte Form der Substanz einer anderen Elektrode zur ursprünglichen Form der Substanz reduziert und bilden zusammen ein sogenanntes Redox-Paar,
  - 10 - durch einen zyklischen Ablauf von Oxidation und Reduktion wird an beiden Elektroden, den sog. Redox-Elektroden, eine Signalverstärkung für eine nachfolgende Signalauswertung bewirkt,
  - ein vom Verhältnis der Konzentrationen bzw. Aktivitäten  
15 des Redox-Paares abhängiges, sich an einer katalytisch aktiven Fläche ausbildendes Redox-Potential wird stromlos abgegriffen und als Bezugspotential der Signalauswertung mittels elektrochemischer Messtechnik zugrunde gelegt.
- 20 2. Elektrochemisches Analyseverfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Redox-Potential als Referenzpotential bei der Signalverstärkung durch das Redox-(Re)cycling verwendet wird.
- 25 3. Elektrochemisches Analyseverfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass das Redox-Potential an einer separaten, mit einem hochohmigen Verstärker verbundenen Referenzelektrode abgegriffen wird.
- 30 4. Elektrochemisches Analyseverfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass zum Abgreifen eines exakten und stabilen Redox-Potentials die Referenzelektrode äquidistant zu den Redox-Elektroden platziert wird.
- 35 5. Anordnung für ein elektrochemisches Analyseverfahren zur Durchführung des Verfahrens nach Anspruch 1 oder einem der

Ansprüche 2 bis 4, mit einem Elektrodensystem aus wenigstens drei Elektroden, wobei wenigstens eine Arbeitselektrode, eine Gegenelektrode und eine Referenzelektrode vorhanden sind, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t , dass die Re-  
5 ferenzelektrode (R) zumindest Teilbereichen von zwei der weiteren Elektroden ( $W_{ox}$ ,  $W_{red}$ , C) benachbart ist.

6. Anordnung nach Anspruch 5, d a d u r c h g e -  
k e n n z e i c h n e t , dass die Referenzelektrode (R)  
10 von den benachbarten Teilbereichen der weiteren Elektroden ( $W_{ox}$ ,  $W_{red}$ , C) gleich beabstandet ist.

7. Anordnung nach Anspruch 5, d a d u r c h g e -  
k e n n z e i c h n e t , dass eine Arbeitselektrode (W),  
15 eine Gegenelektrode (C) und eine Referenzelektrode (R) vorhanden sind.

8. Anordnung nach Anspruch 5, d a d u r c h g e -  
k e n n z e i c h n e t , dass zwei Arbeitselektroden ( $W_{ox}$ ,  
20  $W_{red}$ ), eine Gegenelektrode (C) und eine Referenzelektrode (R) vorhanden sind.

9. Anordnung nach Anspruch 5 und Anspruch 8, wobei zwei Arbeitselektroden vorhanden sind, d a d u r c h g e -  
25 k e n n z e i c h n e t , dass die Arbeitselektroden ( $W_{ox}$ ,  $W_{red}$ ) gleich und jeweils kammartig mit einzelnen Fingern (21, 22, ..., 25, ...) ausgebildet sind und dass die Arbeitselektroden ( $W_{ox}$ ,  $W_{red}$ ) mit den einzelnen Fingern (31, 32, ..., 35, ...) ineinandergreifen, wobei die Referenzelektrode (R) so-  
30 wohl einem Finger (25) der ersten Arbeitselektrode ( $W_{ox}$ ) als auch einem Finger (35) der zweiten Arbeitselektrode ( $W_{red}$ ) benachbart ist.

10. Anordnung nach Anspruch 5 und Anspruch 7, wobei eine  
35 Arbeitselektrode vorhanden ist, d a d u r c h g e -  
k e n n z e i c h n e t , dass die Arbeitselektrode (W) und die Gegenelektrode (C) gleich und jeweils kammartig mit ein-

15

zelnen Fingern ausgebildet sind und dass die Arbeitselektrode (W) und die Gegenelektrode (C) mit den einzelnen Fingern (21, 22, ..., 25, ..., 41, 42, ..., 45, ...) ineinandergreifen, wobei die Referenzelektrode (R) sowohl einem Finger (20) der Arbeitselektrode (W) als auch einem Finger (45) der Gegenelektrode (C) benachbart ist.

11. Anordnung nach Anspruch 8 und Anspruch 9, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t , dass die Arbeitselektroden ( $W_{ox}$ ,  $W_{red}$ ) und die Referenzelektrode (R) parallel verlaufen und eine Rechteckfläche bilden.

12. Anordnung nach Anspruch 7 und Anspruch 10, d a d u r c h h g e k e n n z e i c h n e t , dass die Arbeitselektrode (W), die Gegenelektrode (C) und die Referenzelektrode (R) parallel verlaufen und eine Rechteckfläche bilden.

13. Anordnung nach Anspruch 8 und Anspruch 9, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t , dass die Arbeitselektroden ( $W_{ox}$ ,  $W_{red}$ ) und die Referenzelektrode (R) parallel kreisförmig verlaufen und eine Kreisfläche bilden.

14. Anordnung nach Anspruch 13, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t , dass die Arbeitselektroden ( $W_{ox}$ ,  $W_{red}$ ) und die Gegenelektrode (C) von radialen Anschlüssen (120, 130) ausgehend parallel kreisförmig verlaufen und die Kreisfläche bilden, wobei die Referenzelektrode (R) radial und parallel zwischen den Anschlüssen (120, 130) der Arbeitselektroden ( $W_{ox}$ ,  $W_{red}$ ) verläuft.

15. Anordnung nach einem der Ansprüche 5 bis 14, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t , dass alle Elektroden ( $W_{ox}$ ,  $W_{red}$ , C, R) aus dem gleichen Material bestehen.

16. Anordnung nach Anspruch 15, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t , dass die Elektroden ( $W_{ox}$ ,  $W_{red}$ , C, R) aus Edelmetall gebildet sind.

17. Anordnung nach Anspruch 15, d a d u r c h g e -  
k e n n z e i c h n e t , dass das Elektrodensystem auf ei-  
ner planaren Unterlage (1) eines geeigneten Materials, wie  
5 beispielsweise Kunststoff, Glas, Keramik oder insbesondere  
Silizium, angeordnet ist.

18. Anordnung nach Anspruch 15, d a d u r c h g e -  
k e n n z e i c h n e t , dass die Unterlage ein kristal-  
10 lographisch orientiertes Silizium-Substrat (10) ist.

19. Anordnung nach Anspruch 18, d a d u r c h g e -  
k e n n z e i c h n e t , dass die Referenzelektrode (R) am  
hochohmigen Eingang eines Messverstärkers (15) angeschlossen  
15 ist, wobei der Messverstärker (15) durch Integration im Sili-  
zium-Substrat (10) gebildet ist und aufgrund des kurzen An-  
schlussweges eine störungsfreie Potentialmessung ermöglicht.

20. Anordnung nach einem der Ansprüche 5 bis 19, d a -  
20 d u r c h g e k e n n z e i c h n e t , dass das Silizi-  
um-Substrat (1,10) mit den Elektroden ( $W_{ox}$ ,  $W_{red}$ , C, R) ein Ar-  
raysystem bildet.

21. Verwendung einer Anordnung mit wenigstens einem Elektro-  
25 densystems nach Anspruch 5 oder einem der Ansprüche 6 bis 20  
zum Messen von enzym-gekoppelten Nachweisreaktionen.

22. Verwendung einer Anordnung mit wenigstens einem Elektro-  
densystem nach Anspruch 5 oder einem der Ansprüche 6 bis 20  
30 zum Messen eines Sauerstoffpartialdruckes ( $pO_2$ ).

23. Verwendung einer Anordnung mit wenigstens einem Elektro-  
densystem nach Anspruch 5 oder einem der Ansprüche 6 bis 20  
zum Messen von Wasserstoffperoxid ( $H_2O_2$ ) für eine Glukose-  
35 bestimmung.



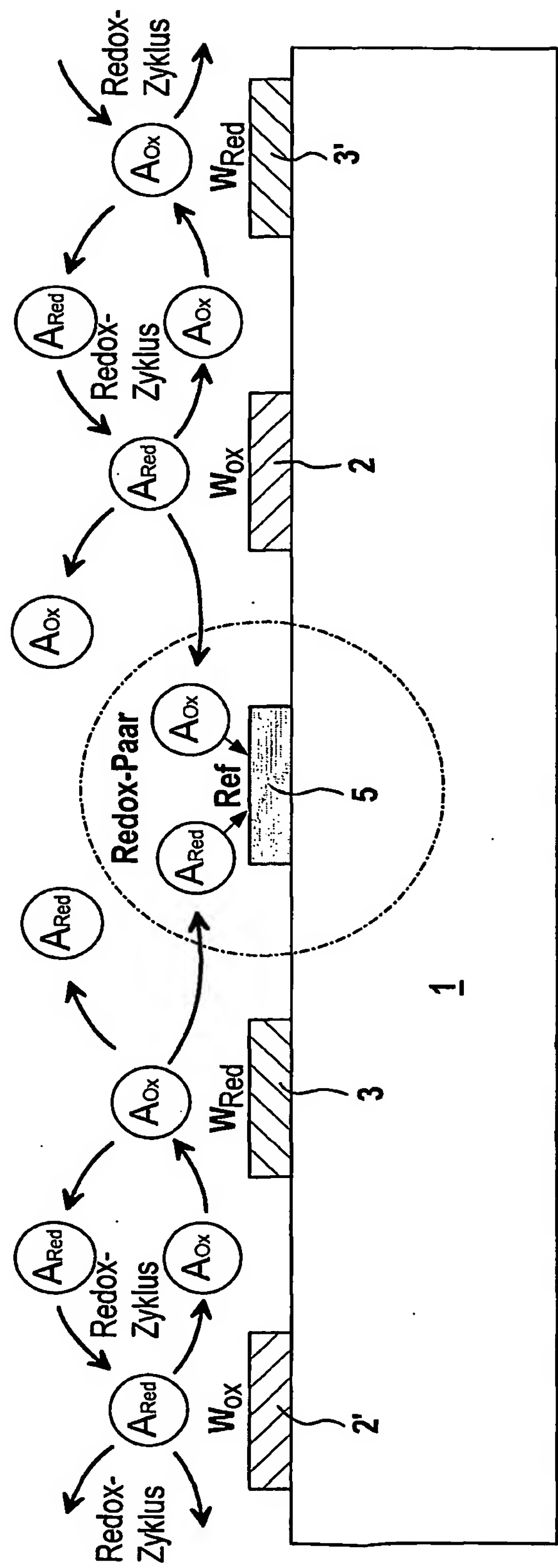


FIG 1

2/5

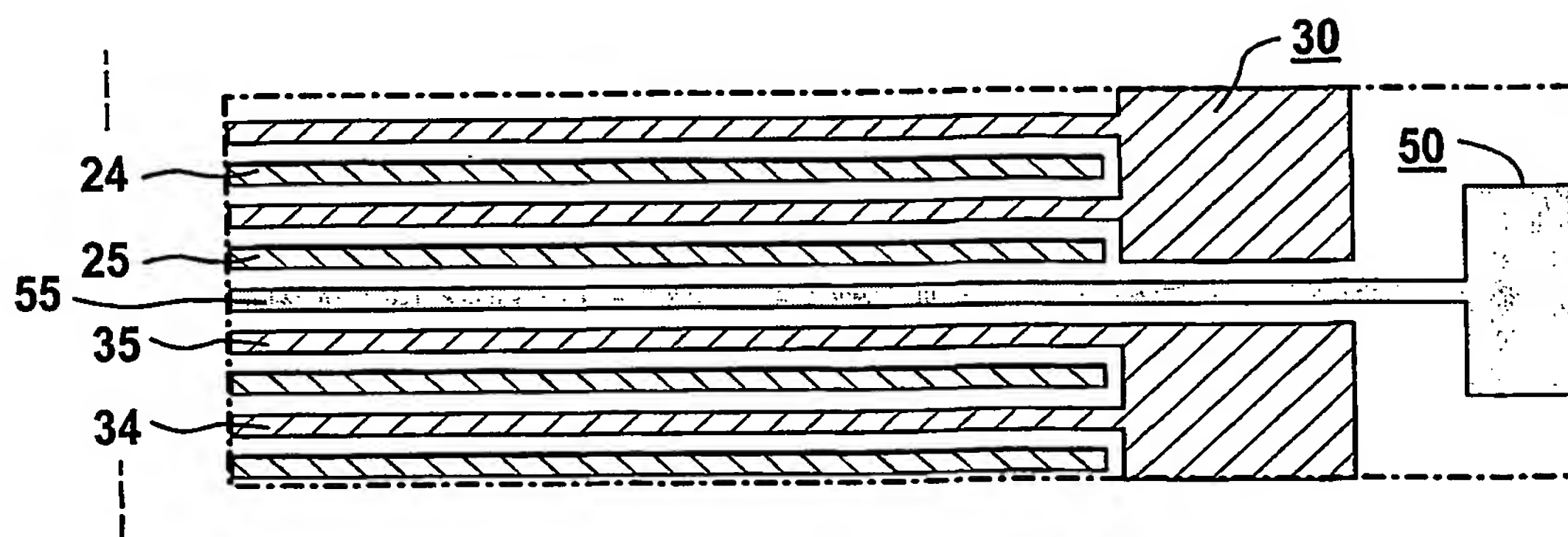
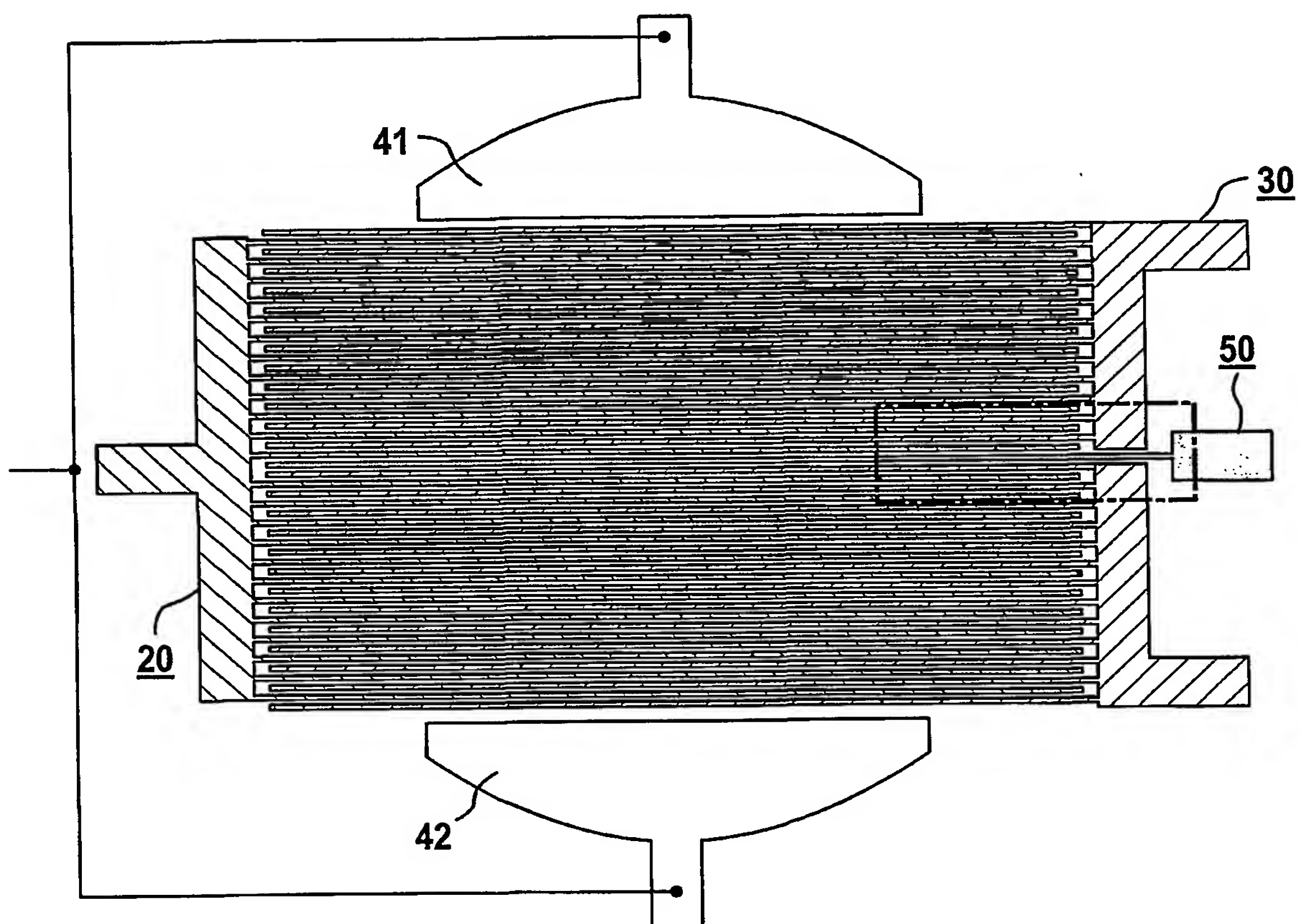


FIG 2

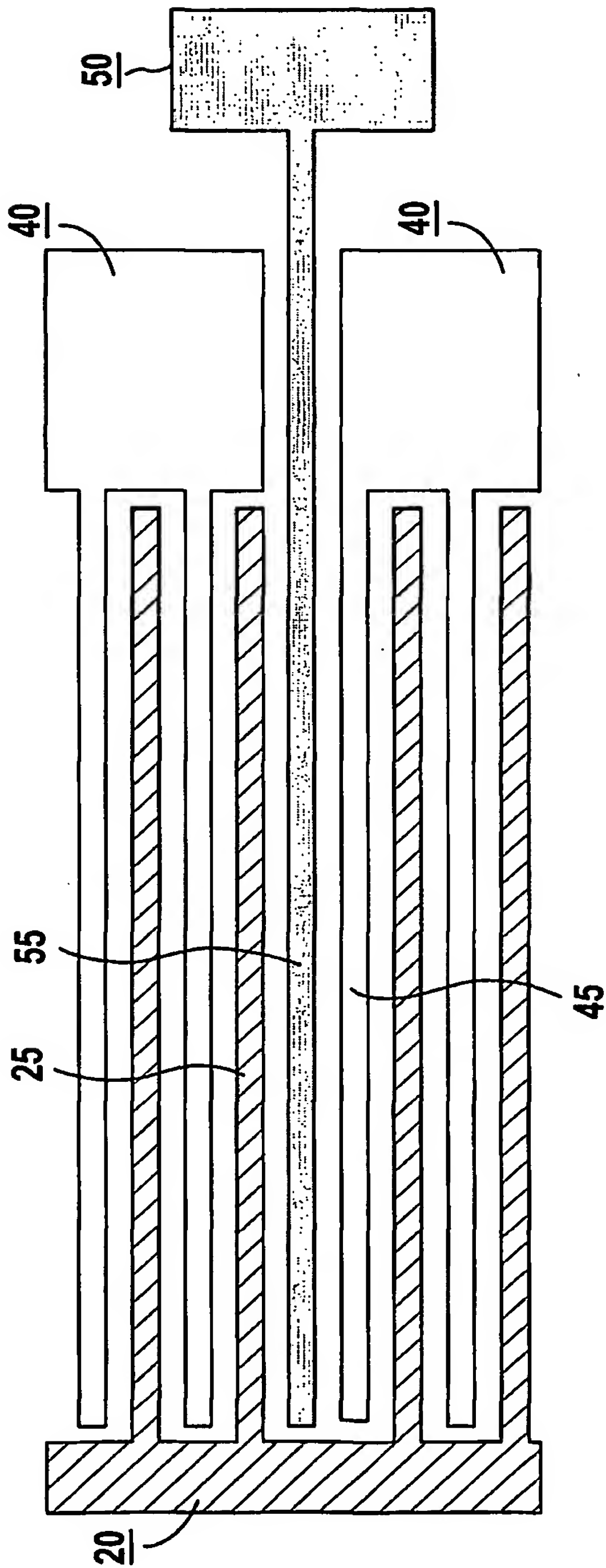


FIG 3

4/5

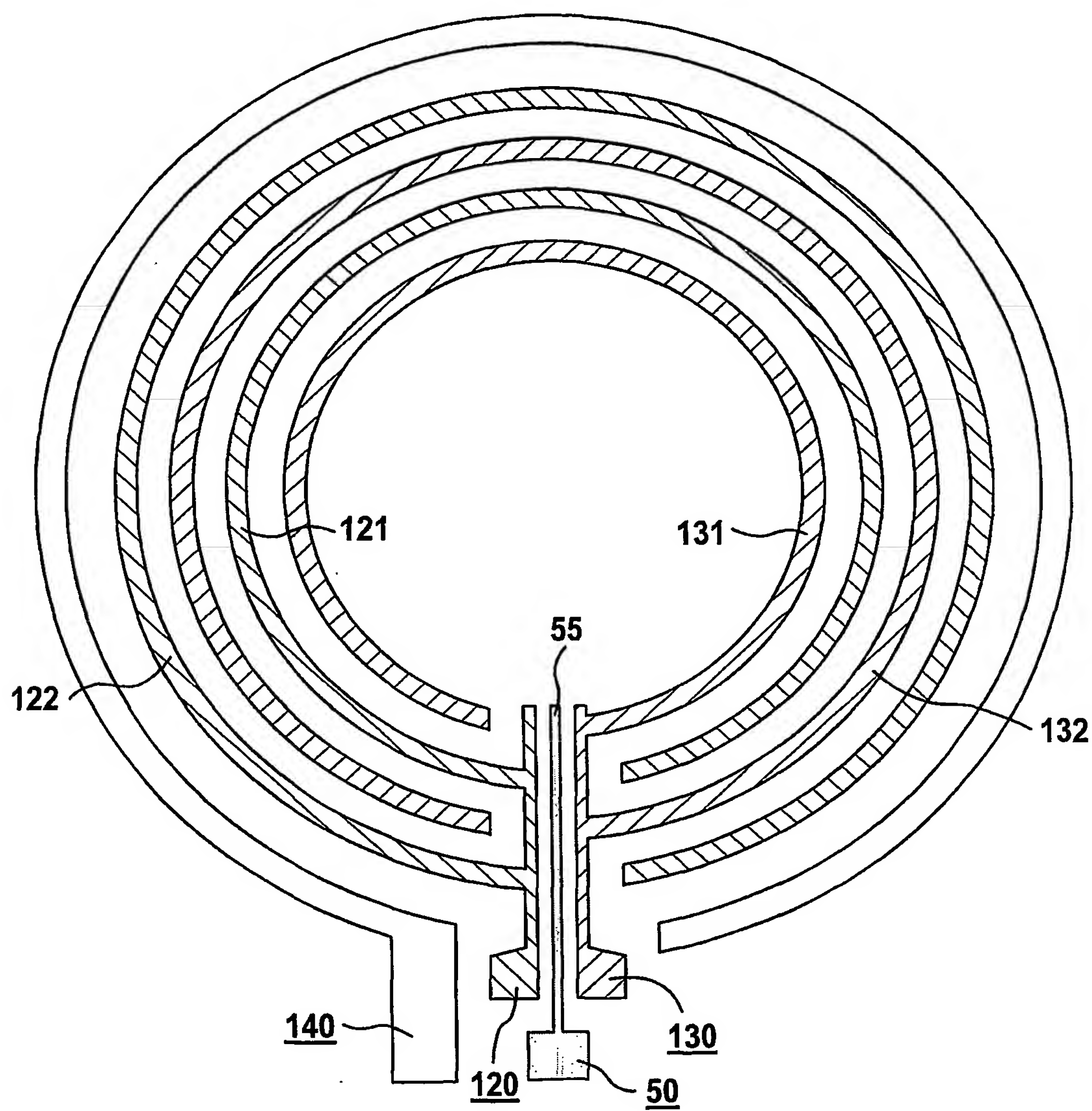


FIG 4

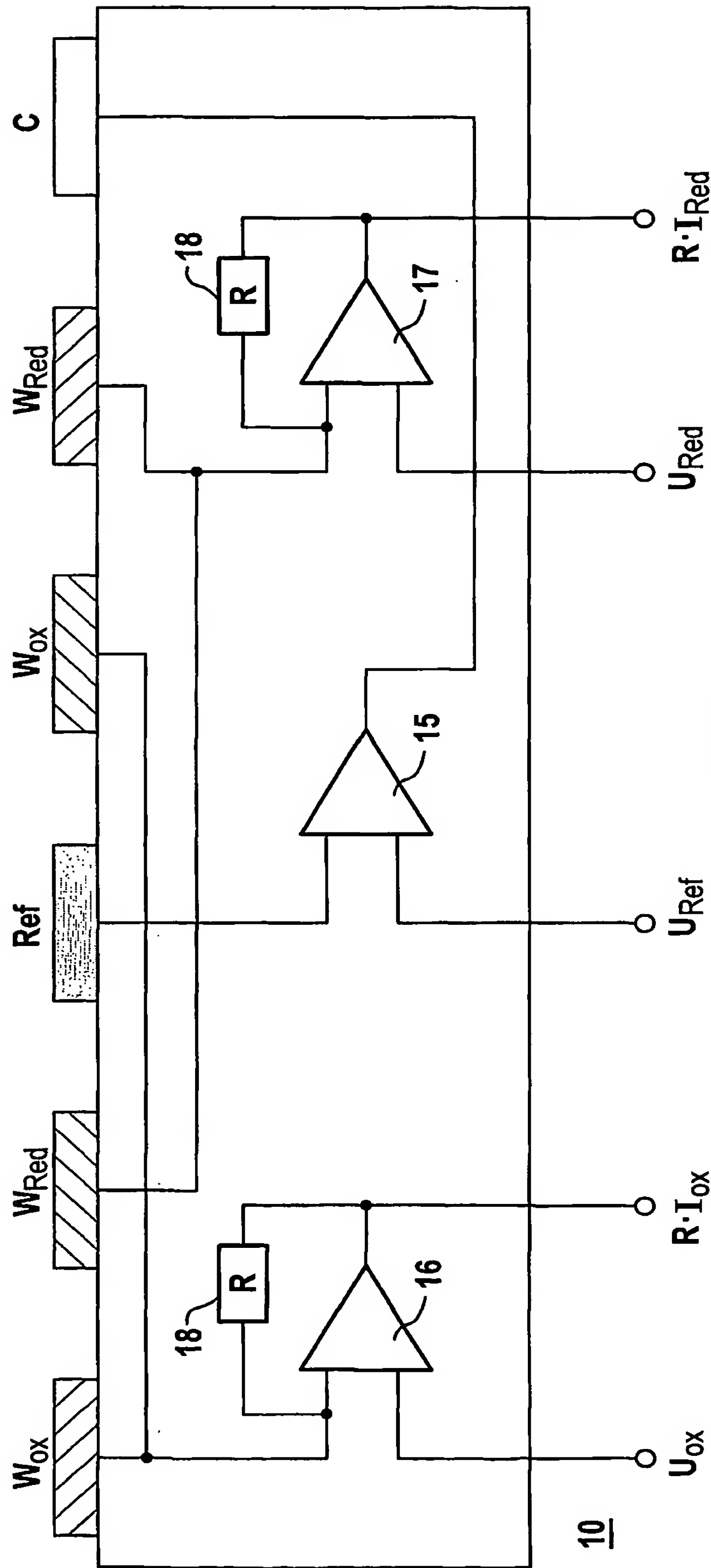


FIG 5



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter Application No  
PCT/DE 01/04438A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC 7 G01N27/403

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, INSPEC, COMPENDEX

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 90 12314 A (URBAN GERALD ;NAUER GERHARD (AT)) 18 October 1990 (1990-10-18) cited in the application	5,6
A	page 10, line 4 - line 9; figure 3 ---	1-4,7-23
A	NIWA O ET AL: "Small-volume voltammetric detection of 4-aminophenol with interdigitated array electrodes and its application to electrochemical enzyme immunoassay" ANALYTICAL CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, COLUMBUS, US, vol. 65, no. 11, 1993, pages 1559-1563, XP002082750 ISSN: 0003-2700 the whole document --- -/--	1-23

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents:

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \*&\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

20 March 2002

Date of mailing of the international search report

28/03/2002

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Stussi, E

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inten Application No

PCT/DE 01/04438

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	NIWA O ET AL: "ELECTROCHEMICAL BEHAVIOR OF REVERSIBLE REDOX SPECIES AT INTERDIGITATED ARRAY ELECTRODES WITH DIFFERENT GEOMETRIES: CONSIDERATION OF REDOX CYCLING AND COLLECTION EFFICIENCY" ANALYTICAL CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY. COLUMBUS, US, vol. 62, no. 5, 1990, pages 447-452, XP000943524 ISSN: 0003-2700 cited in the application the whole document ---	1-23
A	DE 199 16 921 A (FRAUNHOFER GES FORSCHUNG) 19 October 2000 (2000-10-19) cited in the application the whole document -----	1-23

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

nation on patent family members

Inter

Application No

PCT/DE 01/04438

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9012314	A	18-10-1990	AT 403528 B	25-03-1998
			AT 78389 A	15-07-1997
			WO 9012314 A1	18-10-1990
			AU 5348790 A	05-11-1990
			DD 301930 A9	21-07-1994
			EP 0418359 A1	27-03-1991
			JP 3505785 T	12-12-1991
DE 19916921	A	19-10-2000	DE 19916921 A1	19-10-2000
			WO 0062048 A2	19-10-2000
			WO 0062047 A1	19-10-2000

## A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 G01N27/403

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 G01N

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der Internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, INSPEC, COMPENDEX

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 90 12314 A (URBAN GERALD ;NAUER GERHARD (AT)) 18. Oktober 1990 (1990-10-18) in der Anmeldung erwähnt	5,6
A	Seite 10, Zeile 4 - Zeile 9; Abbildung 3 ---	1-4,7-23
A	NIWA O ET AL: "Small-volume voltammetric detection of 4-aminophenol with interdigitated array electrodes and its application to electrochemical enzyme immunoassay" ANALYTICAL CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, COLUMBUS, US, Bd. 65, Nr. 11, 1993, Seiten 1559-1563, XP002082750 ISSN: 0003-2700 das ganze Dokument --- -/--	1-23

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen☒ Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

\*A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

\*E\* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

\*L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

\*O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

\*P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

\*T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

\*X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

\*Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

\*&amp;\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

20. März 2002

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

28/03/2002

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Stussi, E

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	NIWA O ET AL: "ELECTROCHEMICAL BEHAVIOR OF REVERSIBLE REDOX SPECIES AT INTERDIGITATED ARRAY ELECTRODES WITH DIFFERENT GEOMETRIES: CONSIDERATION OF REDOX CYCLING AND COLLECTION EFFICIENCY" ANALYTICAL CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY. COLUMBUS, US, Bd. 62, Nr. 5, 1990, Seiten 447-452, XP000943524 ISSN: 0003-2700 in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument	1-23
A	DE 199 16 921 A (FRAUNHOFER GES FORSCHUNG) 19. Oktober 2000 (2000-10-19) in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument	1-23



# INTERNATIONALE RESEARCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichung, die der selben Patentfamilie gehören

Intern. Kennzeichen

PCT/DE 01/04438

Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9012314	A	18-10-1990	AT 403528 B 25-03-1998
		AT 78389 A 15-07-1997	
		WO 9012314 A1 18-10-1990	
		AU 5348790 A 05-11-1990	
		DD 301930 A9 21-07-1994	
		EP 0418359 A1 27-03-1991	
		JP 3505785 T 12-12-1991	
DE 19916921	A	19-10-2000	DE 19916921 A1 19-10-2000
		WO 0062048 A2 19-10-2000	
		WO 0062047 A1 19-10-2000	

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**